

# PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 63-307829

(43)Date of publication of application : 15.12.1988

---

(51)Int.Cl. C07B 57/00  
C07D213/38  
// B01D 15/00  
B01J 20/22  
C07C102/00  
C07C103/84  
G01N 30/48

---

(21)Application number : 61-074369

(71)Applicant : EISAI CO LTD

(22)Date of filing : 02.04.1986

(72)Inventor : MIWA TOSHINOBU

HATTORI TEIICHI

TSUNO MASANORI

ICHIKAWA MASAMI

MIYAGAWA TAKESHI

MIYAKE YASUO

---

## (54) RESOLVING AGENT FOR OPTICAL ISOMER

### (57)Abstract:

PURPOSE: To obtain an inexpensive resolving agent for optical isomers, having stability to degeneration with organic solvents, comprising a stationary phase prepared by bonding ovomucoid to a carrier such as silica gel or cellulose.

CONSTITUTION: The titled resolving agent having a stationary phase obtained by bonding ovomucoid inexpensively obtainable from glair to aminopropyl silica as a carrier by using N,N-disuccinimidyl carbonate as a crosslinking agent, or bonding ovomucoid to silica gel as a carrier by using 3-glycidoxypropyltrimethoxysilane as a crosslinking agent or by activating Sepharose as a carrier with cyanogen bromide and bonding ovomucoid to the activated Sepharose. The resolving agent is stable to degeneration with organic solvents and suitable for use in liquid chromatography.

---

### LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of  
rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

## ⑪ 公開特許公報 (A) 昭63-307829

⑤Int.Cl. <sup>1</sup>	識別記号	厅内整理番号	④公開 昭和63年(1988)12月15日
C 07 B 57/00	310	7457-4H	
C 07 D 213/38		6971-4C	
// B 01 D 15/00		K-6953-4D	
B 01 J 20/22		6939-4G	
C 07 C 102/00		Z-7419-4H	
103/84		Z-7621-2G	審査請求 未請求 発明の数 1 (全5頁)
G 01 N 30/48			

## ⑤発明の名称 光学異性体用分離剤

⑥特願 昭61-74369

⑦出願 昭61(1986)4月2日

⑧発明者 三輪 敏紳	岐阜県羽島郡川島町竹早町2 エーザイ寮
⑨発明者 服部 祐一	愛知県犬山市大字五郎丸字鷺寺11-26
⑩発明者 津野 昌紀	岐阜県羽島郡川島町竹早町2 エーザイ寮
⑪発明者 市川 正己	岐阜県各務原市那加西野町40-1 横山マンション
⑫発明者 宮川 剛	岐阜県各務原市緑苑南1-37
⑬発明者 三宅 康夫	愛知県犬山市橋爪字止々馬木1-17
⑭出願人 エーザイ株式会社	東京都文京区小石川4丁目6番10号

## 明細書

る。

## (2) 従来技術と問題点

不斉炭素原子を含むキラルな化学物質について、その光学異性体を分離することが特に医薬品の分野において強く要求されている。すなわち一つのラセミ体を構成する複数の光学異性体の中の一つのものが特別に頭著な医薬上の有用性、例えば頭著な薬理作用、頭著な生体内利用性を示し、あるいは反対に頭著な毒性を示すことが一般事実として明らかになり、従って医薬品としてはラセミ体によって投与されるよりも、分離された光学異性体によって投与される方がより合理的であり、治療効果を高める結果となるからである。

光学異性体の分離については従来から幾多の実験室的方法が報告してきたが、工業的規模において実施できるものは少なく、これは非常に困難な技術課題であると考えられてきた。しかしカラムクロマトグラフィーの進歩により、とりわけ液体クロマトグラフィー

## 1. 発明の名称

光学異性体用分離剤

## 2. 特許請求の範囲

(1) オボムコイドを担体に結合した固定相からなることを特徴とする光学異性体用分離剤

(2) 担体がシリカゲルである特許請求の範囲第1項記載の光学異性体用分離剤

(3) 担体がセルロースである特許請求の範囲第1項記載の光学異性体用分離剤

## 3. 発明の詳細な説明

## (1) 産業上の利用分野

本発明は光学異性体の分離剤に関し、担体に結合したオボムコイドが使用されることを特徴とする。従って本発明は光学異性体の分離が技術課題として提起されている化学の分野、とりわけ医薬品の分野において利用され

により光学異性体を分離する方法が一般に知られるようになり、例えば下記文献1)～7)に示されるごとくである。

- 1) ディー・ダブル・アームストロングら：ジャーナル・オブ・クロマトグラフィック・サイエンス、22巻(1984) 411頁～415頁 (D. W. Armstrong et al : Journal of Chromatographic Science, Vol 22 (1984) 411 - 415)
- 2) イエルゲン・ヘルマンソン：ジャーナル・オブ・クロマトグラフィー、325(1985) 379頁～384頁 (Jørgen Hermansson : Journal of Chromatography, 325 (1985) 379 - 384)
- 3) アイ・ダブル・ウェイナーら：ジャーナル・オブ・クロマトグラフィー、284(1984) 117頁～124頁 (I. W. Wainer et al : Journal of Chromatography, 284 (1984) 117 - 124)
- 4) エス・アレンマルクら：ジャーナル・オブ

に結合せしめた固定相を使用して分離する方法を開示している。7)はオロソムコイド、その官能類似体等を使用して分離する方法を開示している。

しかしながらこれらの技術における使用資材は一般に高価である。またこれらの技術における分離方法は主として多量の有機溶媒を使用する液体クロマトグラフィーによって行われるので、使用資材は有機溶媒による変性に対して安定でなければならないが、例えばアルブミン、オロソムコイドはこの条件を十分に満足することができない。これらは従来技術における問題点である。

### (3) 解決手段

前記の問題点にかんがみ、本発明者はより安価であり、かつ有機溶媒による変性に対して安定な資材を利用して光学異性体を分離する技術の提供を目的として、種々の検討をおこなった。その結果、卵白より安価な副産物として入手することのできるオボムコイドを

- ・ クロマトグラフィー、284(1983) 63頁～68頁 (S. Allenmark et al : Journal of Chromatography, 284 (1983) 63 - 68)
- 5) エス・アレンマルクら：ジャーナル・オブ・クロマトグラフィー、237(1982) 473頁～477頁 (S. Allenmark et al : Journal of Chromatography, 237 (1982) 473 - 477)
- 6) 米国特許番号 4,538,399号公報
- 7) 特開昭60-11619号公報
- 1) はキラルなシクロデキストリンを使用する分離方法を開示し、6)は該シクロデキストリンをシリカゲルに結合せしめた固定相を使用して分離する方法を開示している。2)はキラルな $\alpha$ -D-醣蛋白を使用する技術を開示しており、3)は (R)-N-(3,5-ジニトロベンゾイル)フェニルグリシンを使用する技術を開示している。4)および5)は牛血清アルブミンをそれぞれシリカおよびアガロース

使用することにより目的を達成することができることを知り、本発明を完成するに至った。すなわち本発明はオボムコイドを担体に結合した固定相からなることを特徴とする光学異性体用分離を開示するものである。

以下に本発明を詳細に説明する。

オボムコイドは卵白中に存在し、等電点が3.9～4.5の糖蛋白質である。熱凝固せず、またトリクロロ酢酸で沈殿しないので、他の通常の蛋白質との分離が容易である。例えば卵白を75～100°Cで処理して、オボムコイド以外の大部分の蛋白質を熱凝固させ、その上清にエタノールを加えて沈殿採取するとか、あるいはpH3.5に調整した卵白に同量の0.5Mトリクロロ酢酸アセトン混合液(1:2容)を加えて他の蛋白質を沈殿せしめ、その上清に2～3倍容のアセトンを加えて沈殿採取すれば得られる。しかし卵白よりリゾチームあるいはコンアルブミンを採取した後の残液から、これらの副産物として容易に分離するこ

ともできる。従って本発明においてオボムコイドはこのようにして安価に製造したオボムコイドを入手して使用すればよく、特別に限定される必要はない。

担体はオボムコイドと結合し、固定相を形成し得るものであればよい。本発明による光学異性体の分離は主として液体クロマトグラフィーによって行われるので、担体としては例えばシリカゲル、セファローズ等を挙げることができる。オボムコイドを担体に結合する方法は固定相を形成するために通常に行われている方法に従って行えばよい。従って例えばアミノプロピルシリカを担体とし、N、N-ジサクシニミジルカーボネートを架橋剤としてオボムコイドを結合したり、あるいはシリカゲルを担体とし、3-グリシドオキシプロピルトリメトキシシランを架橋剤としてオボムコイドを結合したり、あるいはセファロースを担体とし、プロムシアンで活性化してからこれにオボムコイドを結合したりする

ドリン、キニーネ、フェニレフリン、プロブラノロール、メタンフェタミン、スコボラミン、ホマトロビン、メチルドーバ、ベラバミル等を挙げることができる。これらにおいては互いに鏡像関係にある複数の光学異性体が存し、一体となってラセミ体を形成している。本発明はこれらラセミ体を対象として、それらからそれらを構成する光学異性体を分離する。

本発明分離剤は主として液体クロマトグラフィーにおいて使用される。従ってその使用方法は液体クロマトグラフィーにおける通常の操作によって行えばよく、例えば本発明分離剤をカラムに充填し、光学異性体に係るセラミ体をチャージし、次にリン酸緩衝液、エタノール水溶液、イソプロパノール等の移動相を流通せしめ、保持時間の差によって、所用の光学異性体を分離すればよい。

方法が挙げられる。本発明の主要な点は光学異性体の分離にあたりオボムコイドが使用されることにあるので、本発明は担体との結合方法によって特別に限定されるものではない。

本発明分離剤は前記したことく、オボムコイドを担体に結合して得られた固定相からなることを特徴とする。従って本発明分離剤には当該固定相が必須の構成成分として含まれるが、同時に分離剤中に他の成分、例えばシリカゲルやセルロースが任意に選択されて加えらることは自由であり、分離効率の向上のために適宜行うことができる。

本発明において光学異性体は分子内に不斉炭素原子を有するキラル化合物を言い、多くの医薬品にその例を見ることができる。例えばα-エーテルベンゾイルリジン、クロルブレナリン、クロルフェニラミン、アスコルビン酸、アンビシリン、アトロビン、トコフェロール、エビネフリン、エチレフリン、エフェ

#### (1) 実施例

以下に記載する実施例によって本発明を具体的に説明する。

##### 実施例1

アミノプロピルシリカゲル3gおよびN,N-ジサクシニミジルカーボネート2gを0.1M炭酸水素ナトリウム緩衝液(pH6.8)100mlに入れ、一液搅拌し、ガラスフィルター上にとり、水洗して活性化アミノプロピルシリカゲルの懸濁液を用意した。別にオボムコイド2gを0.1M炭酸水素ナトリウム緩衝液(pH6.8)30mlに溶解した溶液を用意し、それを前記懸濁液に加え、本発明分離剤を得た。スチールカラムに充填し、光学異性体分離用カラムとした。

##### 実施例2

シリカゲル10gを140°Cにて24時間乾燥し、冷却後、トルエン140mlに懸濁し、3-グリシドオキシプロピルトリメトキシシラン15mlを加え、加热回流し、5時間後に上部よ

り低沸点留分を除き、ガラスフィルター上にとり、トルエン、テトラヒドロフラン、メタノールで順次洗浄し、60℃で2時間乾燥して、エポキシ活性化シリカゲルを得た。この5gをpH8.5のホウ酸緩衝液50mlに懸濁し、これにオボムコイド500mgを加え、室温にて24時間反応させた。ガラスフィルター上にとり、水洗して本発明分離剤を得た。20mMリン酸緩衝液(pH7.0)に懸濁し、カラムに充填し、光学異性体分離用カラムとした。

#### 実験例3

0.1M炭酸水素ナトリウム緩衝液(pH8.3)に市販のブロムシアン活性化セファローズ4Bを加えて膨潤させ、これにオボムコイドを加えて混合し、本発明分離剤を得た。

#### (5) 発明の効果

以下の実験例によって本発明の効果を示す。

#### 実験例1

実験例1で用意された光学異性体分離用カラムを用いて、α-エーテルベンゾイルリジンのエナンチオマーにおける分離を試みた。

た。なお、移動相は20mMリン酸緩衝液( $K_1/K_2$ ) (pH5.5)を使用し、流速を1.2ml/minとし、検出を220nmでおこなった。結果を図3に示す。図3の上段はラセミ体、下段はd-体のクロマトグラムである。図3より本発明分離剤によって各光学異性体が分離されることが判明する。

#### 4. 図面の簡単な説明

図1はα-エーテルベンゾイルリジンのエナンチオマーの液体クロマトグラムを示す。図2はクロルブレナリンのラセミ体および1体の液体クロマトグラムであり、それぞれ図の左側、および右側に示される。図3はクロルフェニラミンのラセミ体および1体の液体クロマトグラムであり、それぞれ図の上段および下段に示される。

#### 特開昭63-307829(4)

ラムを用いてα-エーテルベンゾイルリジンのエナンチオマーにおける分離を試みた。なお、移動相は20mMリン酸緩衝液( $K_1/K_2$ ) (pH6.0)を使用し、流速を1.0ml/minとした。結果を図1に示す。図1より本発明分離剤によって各光学異性体が分離されることが判明する。

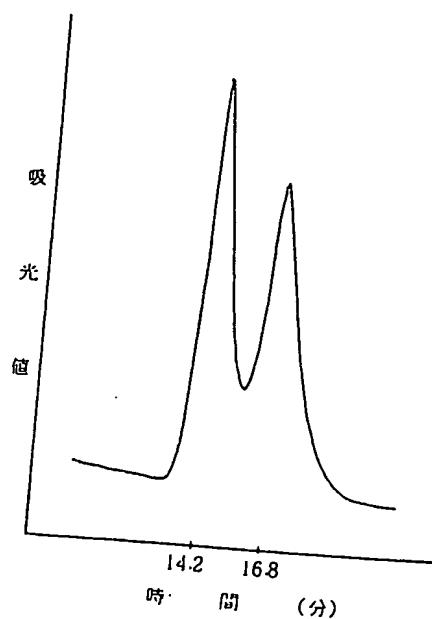
#### 実験例2

実験例1と同様にしてクロルブレナリンのラセミ体における分離を試みた。対照として1体のクロマトグラムを同様にして求めた。なお、検出は210nmでおこなった。結果を図2に示す。図2の左側はラセミ体、右側は1体のクロマトグラムである。図2より本発明分離剤によって各光学異性体が分離されることが判明する。

#### 実験例3

実験例1と同様にしてクロルフェニラミンのラセミ体における分離を試みた。対照として1体のクロマトグラムを同様にして求め

図1



特許出願人

エーザイ株式会社

図2

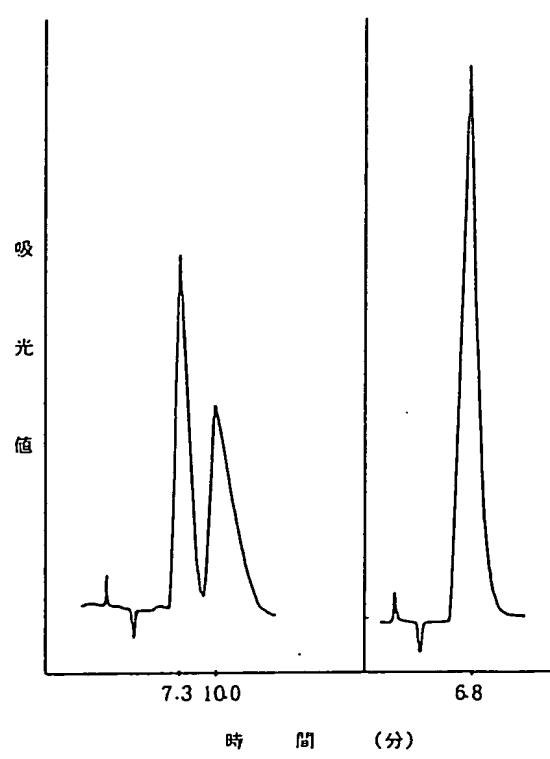


図3

